

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffeacanephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI SPASIAL PADA
TIKUS PUTIH (*Rattusnorvegicus*) JANTAN GALUR *Spraguedawley* YANG
DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT**

(Skripsi)

Oleh

ANIS SYAFA'ATUL HUSNA



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffeacanephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI SPASIAL PADA
TIKUS PUTIH (*Rattusnorvegicus*) JANTAN GALUR *Spraguedawley* YANG
DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT**

Oleh
AnisSyafa'atulHusna

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffeacanephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT

Oleh

ANIS SYAFA'ATUL HUSNA

Latar Belakang: Monosodium glutamat (MSG) sebagai penyedap rasa apabila diberikan secara berlebihan akan mengaktifkan reseptor glutamat berlebihan sehingga dapat menyebabkan kerusakan otak. Kopi mengandung asam klorogenat yang bersifat neuroprotektif. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffeacanephora*) Lampung terhadap memori spasial tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi MSG.

Metode: Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor dan dibagi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Pada penelitian ini tikus diinduksi MSG peroral dengan dosis 2 gr/kg BB/hari untuk kelompok kontrol positif dan secara berurutan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 disertai induksi ekstrak kopi robusta Lampung dengan dosis 0,5 mg/mL/hari, 1 mg/mL/hari, dan 2 mg/mL/hari. Selanjutnya penilaian memori spasial dilakukan dengan metode *Morris Water Maze* (MWM).

Hasil: Hasil rerata memori spasial secara berurutan kelompok K(-), K(+), P1, P2, P3 adalah 22.75±4.50 detik, 15.80± 9.91 detik, 16.80± 5.71 detik, 25.00± 15.13 detik, 25.60± 10.47 detik. Hasil analisis statistik *One Way Anova*, nilai $p=0,294$ sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata pada semua kelompok.

Simpulan: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*coffeacanephora*) Lampung terhadap memori spasial tikus putih jantan (*rattus novergicus*) galur *spraguedawley* yang diinduksi MSG.

Kata Kunci: kopi robusta, memori spasial, monosodium glutamat

ABSTRACT

THE EFFECT OF EXTRACT COFFEE ROBUSTA (*Coffeacanephora*) LAMPUNG AGAINSTS TO SPATIAL MEMORY IN MALE RATS STRAIN (*Rattusnorvegicus*) *Sprague dawley* INDUCED BY MONOSODIUM GLUTAMATE

by

ANIS SYAFA'ATUL HUSNA

Background: Monosodium glutamate (MSG) as a flavor when given in excess will activate excess glutamate receptors so that it can cause brain damage. Coffee contains neuroprotective chlorogenic acid. The purpose of this study was to determine the effect of Lampung Robusta coffee (*Coffeacanephora*) extract on the spatial memory of MSG-induced male white rats (*Rattusnorvegicus*).

Method: This research was carried out using an experimental method with a completely randomized design. The number of samples used was 25 and divided into 5 groups, each consisting of 5 rats. In this study rats were induced by oral MSG at a dose of 2 gr / kgBW / day for the positive control group and sequentially treatment groups 1, 2, and 3 were accompanied by induction of Lampung robusta coffee extract at a dose of 0.5 mg / mL / day, 1 mg / mL / day, and 2 mg / mL / day. Furthermore, the assessment of spatial memory was carried out by the Morris Water Maze (MWM) method.

Results: The average results of spatial memory sequentially groups K (-), K (+), P1, P2, P3 are 22.75 ± 4.50 second, 15.80 ± 9.91 second, 16.80 ± 5.71 second, 25.00 ± 15.13 second, 25.60 ± 10.47 second. The results of One Way Anova analysis have a result of 0.294, $p > 0.05$. So that it can be stated that there is no difference in mean in all group.

Conclusion: There is no effect on the administration of Robusta coffee extract (*Coffeacanephora*) Lampung to the spatial memory of male white rats (*rattusnovergicus*) *spraguedawley* lines induced by monosodium glutamate.

Keywords: monosodium glutamate, robusta coffee, spatial memory

Judul Skripsi

**:PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
LAMPUNG TERHADAP MEMORI
SPASIAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague
dawley* YANG DIINDUKSI
MONOSODIUM GLUTAMAT**

Nama Mahasiswa

: Anis Syafa'atul Husna

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1518011063

Program Studi

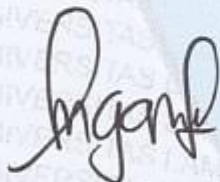
: Pendidikan Dokter

Fakultas

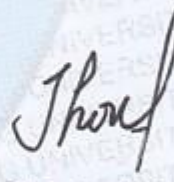
: Kedokteran

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing



dr. Anggraeni Janar Wulan, M.Sc.
NIP. 198201302008122001



Dr. dr. Jhons Fatriyadi Suwandi, M.Kes.
NIP. 197608312003121003

MENYETUJUI

Dekan Fakultas Kedokteran

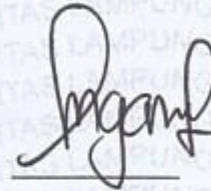


Dr. Dyah Wulan S. R. Wardani, SKM., M.Kes.
NIP. 197206281970220019

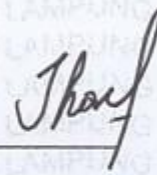
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M.Sc.



Sekretaris: Dr. dr. Jhons Fatriyadi Suwandi, S.Ked., M.Kes



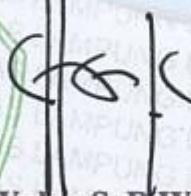
Penguji : dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Dyah Wulan S. R. Wardani, SKM., M.Kes.
NIP. 197206281970220019



Tanggal Lulus Ujian: 9 April 2019

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap Memori Spasial pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* yang Diinduksi Monosodium Glutamat”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual dan karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung



buat pernyataan,

Amis Syafa'atul Husna

NPM.1518011063

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Metro, 4 November 1997, sebagai anak kedua dari tigabersaudara dari Bapak Mahsundan Ibu Muslihatun. Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan pada TK Aisyah pada tahun 2003, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD N 05 Metro Barat, Kota Metro pada tahun 2009, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Kartikatama Metro pada tahun 2012 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Kartikatama Metro pada tahun 2015. Pada tahun 2015, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN.

*Tulisan kecil yang ku persembahkan untuk
Ibu, Bapak, Kakak, dan Adikku tersayang ♥*

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan berkat serta karunianya mencurahkan segala kasih sayangnya dan segala keajaibannya yang masih bisa membawa saya sampai pada titik ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat waktu. Skripsi ini berjudul Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap Memori Spasial pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* yang Diinduksi Monosodium Glutamat ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. DR. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku rektor dan Dr. dr. Muhartono, M.Kes., Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu memberikan beasiswa sehingga penulis dapat melakukan penelitian ini dengan lancar;
2. dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M.Sc., Dr. dr. Jhons Fatriyadi Suwandi, S.Ked., M.Kes., dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA selaku pembimbing pertama, pembimbing kedua, dan pembahasyang ditengah kesibukannya masih mau menyempatkan diri untuk membimbing penulis dalam penyelesaian skripsi ini;

3. dr. RoroRukmiWindi P, S.Ked., M.Kes., Sp.A selaku Pembimbing Akademik selama di FK Unila atas semua bimbingan, saran, kritik, dan nasihatnya selama menempuh pendidikan dokter;
4. Kepada Ibu, Bapak, Kakak, danAdik yang selalu mendoakankelancarandalamsetiapurusan, memenuhi segala kebutuhan selama perkuliahan ini, sertasemangat yang selaludiberikan;
5. Kepada Pak Tri danAlmh. Bu Kis di Bandarlampungatas bantuannyaselamainimemberikantempattinggalsaatpertama kali masukkuliah;
6. Seluruh dosen FK Unila yang telah memberikan ilmu pengetahuan, dukungan serta nasihat selama penulis menempuh pendidikan dokter;
7. Seluruh staf TU dan akademik FK Unila yang telah membantu penulisdalam proses administrasipenelitian ini;
8. Kepada terima kasih sudah selalu hadir dalam setiap langkah dan membantu segala urusan dalam pengerjaan skripsi ini, terima kasih atas segala bantuannya;
9. Kepada Rika Rahmawati, Eniwati, Nadia Eva Zahara, Wulan Alawiyah, Charisatus Sidqotie, Fauziah Hanif, Eka Susiyanti, Astrid Ananda,Fitri Nadia Silvani, dan Vioren yang sudah menjadi temanterdekatselamainidanselalumemotivasipenulis;
10. Kepada teman-teman satu bimbingan, AdillahAfrilia SP, FakhriWisayang sudah saling menyemangati untuk menyelesaikan skripsi kita;
11. Terima kasih kepada TeguhDwiWicaksono, S.Ked. danRahmanindya DP, S.Ked. yang mau menyempatkan diri untuk berbagi pengalaman ditengah kesibukan koasnya;

12. Seluruh pengunjung setia *animal house* yang telah berjuang bersama, berbagi suka dan duka, dan saling menyemangati selama penelitian;
13. Seluruh rekan sejawat FK Unila angkatan 2015 atas doa yang selalu diberikan, serta semangat dan kerjasamanya selama ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi semoga skripsi yang sederhana ini berguna dan bermanfaat bagi setiap orang yang membacanya.

Bandar Lampung

Penulis,

Anis Syafa'atul Husna

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Monosodium Glutamat.....	6
2.2 Memori Spasial	10
2.3 Kopi Robusta	11
2.4 Tikus Putih	14
2.5 Kerangka Teori.....	15
2.6 Kerangka Konsep.....	17
2.6 Hipotesis.....	17
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis dan Desain Penelitian	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	18

3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	18
3.3.1	Populasi Penelitian	18
3.3.2	Sampel Penelitian	18
3.4	Kelompok Perlakuan	20
3.5	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	21
3.5.1	Kriteria Inklusi.....	21
3.5.2	Kriteria Eksklusi	21
3.6	Variabel Penelitian	21
3.6.1	Variabel Bebas.....	21
3.6.2	Variabel Terikat.....	21
3.7	Definisi Operasional	22
3.8	Alat dan Bahan Penelitian	23
3.8.1	Alat	23
3.8.2	Bahan.....	23
3.9	Prosedur	24
3.9.1	<i>Ethical Clearance</i>	24
3.9.2	Pengadaan Hewan Coba	24
3.9.3	Pengadaan Alat <i>Morris Water Maze</i>	24
3.9.4	Pembagian Kelompok.....	25
3.9.5	Perlakuan	25
3.10	Pengumpulan Data	27
3.11	Analisis Data	27
3.12	Alur Penelitian	28

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Gambaran Umum Penelitian	29
4.2	Hasil Penelitian	29

4.3 Pembahasan.....	31
---------------------	----

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan	34
--------------------	----

5.2 Saran.....	34
----------------	----

DAFTAR PUSTAKA	35
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	39
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel1. Definisi Operasional.....	22
Tabel2. Hasil Rerata Memori Spasial	30
Tabel3. Uji Normalitas Data	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Anatomi <i>Hippocampus</i>	11
Gambar 2. Struktur Kimia Asam Klorogenat	12
Gambar 3. Gambaran Fisik Biji Kopi Robusta	13
Gambar 4. Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) galur <i>Sprague dawley</i>	14
Gambar 5. Kerangka teori.....	16
Gambar 6. Kerangka konsep.....	17
Gambar 7. Ilustrasi <i>Morris Water Maze Test</i>	25
Gambar 8. Alur penelitian.....	28

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi menjadi salah satu minuman yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Di Indonesia, terdapat dua jenis kopi yang dikenal masyarakat, yaitu kopi arabika dan robusta. Namun, yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia adalah kopi robusta (*Coffea canephora*) (Ciptaningsih, 2012; Najiyati, 2009). Saat ini lebih dari 90% dari area pertanaman kopi Indonesia terdiri atas kopi robusta (Prastowo dkk., 2010).

Salah satu provinsi di Indonesia yang merupakan penghasil kopi robusta terbanyak adalah Lampung, tepatnya di Kabupaten Lampung Barat dengan luas lahan mencapai 60,347,7 hektare lebih dan hasil kopi kering per tahun mencapai 29.712 ton per hektar/tahun (Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan, 2009-2011). Konsumsi produk pangan fungsional seperti kopi telah menjadi budaya di masyarakat dunia karena tidak hanya menawarkan rasa dan penampilan yang menarik, tetapi juga memberikan nutrisi yang baik bagi tubuh karena mengandung antioksidan alami yang tinggi (Ciptaningsih, 2012). Antioksidan alami terbesar dalam biji kopi adalah asam klorogenat yang

dapat mengobati epilepsi, hiperaktivitas, dan masalah tidur (Sukohar dkk, 2011).

Antioksidan dalam biji kopi dapat digunakan untuk memperbaiki kerusakan fungsi saraf akibat reaksi oksidatif. Fungsi saraf yang dapat diperbaiki antara lain memori spasial. Memori spasial merupakan kemampuan mengingat ruang bidang, mengenali bentuk, jarak, dan luas, serta mengetahui arah atau posisi seseorang (Mastrangelo *et al.*, 2008).

Memori spasial dapat mengalami gangguan apabila neurotransmitter pada cairan ekstraseluler di otak dilepaskan berlebihan. Salah satu neurotransmitter tersebut adalah glutamate, yang dilepaskan sebanyak 40% dari sinaps-sinaps yang terdapat pada sistem saraf pusat, terutama pada regio dalam otak yang mempunyai tugas penting seperti korteks serebri, *hippocampus*, dan girus dentatus (Horvath *et al.*, 2012). Salah satu faktor yang memicu pelepasan neurotransmitter berlebih adalah konsumsi monosodium glutamat (MSG) yang di atas ambang normal (Ardyanto, 2004).

Monosodium glutamat adalah garam natrium yang berasal dari asam glutamat yang dapat dijumpai secara berlimpah pada bahan alam dan telah digunakan sebagai zat aditif yang tersusun dari 78% asam glutamat dan 22% natrium dan air. Bahan ini digunakan sebagai penguat rasa di banyak negara di Asia, seperti Cina, Thailand, Jepang, Korea, dan Indonesia.

Konsumsi MSG di Indonesia terus meningkat setiap tahunnya, yaitu dari 100.568 ton pada tahun 1998 menjadi 122.966 ton pada tahun 2004 berdasarkan survei yang dilakukan oleh Persatuan Pabrik Monosodium Glutamat dan Asam Glutamat Indonesia. Meluasnya pemakaian MSG yang tidak disertai takaran pemakaian yang jelas dan label peringatan dalam kemasan, ternyata telah menimbulkan permasalahan terutama pada fungsi sistem saraf (Ardyanto, 2004).

Kelebihan glutamat yang mengaktivasi reseptor glutamat di cairan ekstraseluler otak secara berlebihan dapat menyebabkan pembengkakan sel, apoptosis, dan kematian neuron yang berfungsi sebagai pengatur memori (Leibowitz, 2012). Hal tersebut juga dijelaskan dalam penelitian mengenai MSG yang menyatakan bahwa pemberian MSG dengan dosis 2 gr/kg peroral selama 10 hari pada tikus Wistar yang berusia 5 minggu menyebabkan gangguan memori jangka panjang (Juliana *et al.*, 2017). Xiong *et al* (2009) membuktikan pemberian MSG pada tikus jantan *Sprague dawley* secara subkutan dengan dosis 4 gr / kgBB menyebabkan hilangnya neuron – neuron disertai perubahan plastisitas sinaptik dari *hipocampus*. Adapun mekanisme toksisitas MSG yaitu menyebabkan stres oksidatif dari timbulnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan berakibat terjadinya peroksidasi lipid (Onyema *et al.*, 2006).

Mengingat penggunaan MSG telah meluas dimasyarakat serta dapat menimbulkan berbagai efek samping, terutama pengaruhnya terhadap

fungsi memori, maka dirasa perlu untuk melakukan penelitian yang berkaitan dengan pengaruh pemberian ekstrak biji kopi sebagai antioksidan terhadap memori spasial yang terinduksi MSG.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji kopi robusta terhadap memori spasial pada tikus putih yang diinduksi MSG?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji kopi robusta terhadap memori spasial pada tikus putih yang diinduksi MSG.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Diri Peneliti

Diharapkan penelitian ini dapat menambah wawasan dan pengetahuan peneliti dalam membuat sebuah karya ilmiah serta peneliti dapat mengetahui pengaruh ekstrak biji kopi terhadap memori spasial.

1.4.2 Ilmu Kedokteran

Diharapkan hasil penelitian ini mampu menjadi ilmu yang bermanfaat bagi peneliti lainnya dan menjadi tambahan wawasan pengetahuan baru dalam dunia kedokteran.

1.4.3 Masyarakat

Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai pengaruh ekstrak biji kopi terhadap memori spasial.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Monosodium Glutamat

Monosodium glutamat sebagai garam turunan dari asam glutamat adalah bahan aditif makanan yang dapat meningkatkan cita rasa (Ismail, 2012). Rasa yang dirasakan dari MSG, yang disebut umami, diyakini berbeda dari asam, asin, manis, dan pahit (Maruyama, 2006). Pada protein hewani, persentase glutamat yang terkandung didalamnya sebanyak 11% sampai 22% sedangkan pada protein nabati dapat mengandung dengan persentase lebih tinggi hingga mencapai 40% (Prawirohardjo dkk., 2000).

Asam glutamat pertama kali ditemukan dalam bentuk murni pada tahun 1866 oleh seorang ahli kimia bernama Ritthausen yang berasal dari Jerman melalui reaksi hidrolisis dari bahan yang bernama *Gliadin*, yaitu suatu bahan yang menjadi bahan penyusun dari *Wheat Gluten*. Sedangkan di negara Jepang sendiri, pada tahun 1907, Profesor Kikunae Ikeda memulai suatu penelitian untuk mengidentifikasi substansi yang berada pada *Kelp* (*Laminariaceae*) dikarenakan telah menghasilkan rasa yang unik pada masakan sup sehingga banyak digunakan pada negara Jepang. Penelitian yang dilakukan oleh beliau ini dilakukan berdasarkan pada hipotesis

bahwa rasa unik yang terdapat pada *Kelp* tidak dapat diklasifikasikan pada keempat rasa klasik yang telah diketahui sejak lama, yaitu rasa pahit, asin, asam, dan manis, sehingga beliau menamakan rasa unik tersebut sebagai *umami*. Akhirnya pada tahun 1908, Profesor Kikunae Ikeda berhasil mengidentifikasi rasa *umami* yang berada dalam *Kelp* sebagai *L-Glutamate*, dan pada akhirnya beliau mematenkan hasil temuannya tersebut sebagai produk bumbu masak terbaru yang terdiri dari bentuk garam dari *L-Glutamic acid*. Sehingga pada tahun 1909, Saburou Suzuki, seorang *entrepreneur* dalam bidang kimia dan farmasi bekerja sama dengan Profesor Kikunae Ikeda untuk mengkomersialkan produk tersebut menjadi *AJINOMOTO*[®] (Sujono, 1993).

Setelah penemuan Profesor Kikunae Ikeda, MSG dalam bentuk *food additive* selalu dipergunakan sebagai bahan tambahan penyedap pada masakan untuk menambahkan rasa pada makanan khususnya pada makanan yang tidak terlalu mempunyai rasa sehingga kegunaannya sebagai bahan masakan mempunyai peran penting dalam pemenuhan nutrisi, terutama pada orang lanjut usia serta orang dengan nutrisi buruk dikarenakan stimulasi oral dari rasa *umami* akan meningkatkan nafsu makan sehingga dapat meningkatkan jumlah ambilan vitamin, mineral, dan protein dalam makanan. Khususnya pada orang usia lanjut, hal ini dapat memperbaiki status nutrisi sehingga pada akhirnya dapat memperbaiki kualitas hidup para lansia tersebut, dan karena hal inilah, berbagai pabrik memproduksi MSG secara besar-besaran.

Monosodium glutamat merupakan produk hasil dari berbagai macam cara, diantaranya yaitu proses ekstraksi dari bahan asalnya, proses sintesis secara kimia, proses fermentasi, serta proses sintesis secara enzimatik, sehingga menjadikan struktur kimia dari MSG tidak memiliki perbedaan yang terlalu jauh berbeda dari struktur kimia asam glutamat, kecuali pada gugus karboksil ($R - COOH$) yang mengandung ikatan hidrogen didalamnya diubah menjadi ikatan karboksil yang mengandung natrium ($R - COONa$) menjadi dalam bentuk garamnya. Perubahan ini mengakibatkan pengaktifan dari stimulasi pada indra pengecap (Xiong *et al*, 2009).

Struktur MSG yaitu berbentuk serbuk kristal berwarna putih yang mudah larut dalam air serta tidak berbau. Apabila MSG dilarutkan didalam air atau saat melarut pada saliva dirongga mulut akan terdisosiasi menjadi natrium yang bertindak sebagai kation serta glutamat sebagai anion (Prawirohardjo, 2000). Setelah glutamat tertangkap pada reseptor tersebut, akan mengakibatkan naiknya konsentrasi ion kalsium dalam intraselular sehingga sebagai hasil akhirnya akan menyebabkan terjadinya proses depolarisasi. Setelah proses depolarisasi terjadi, maka selanjutnya akan mengaktifkan saraf afferen pada daerah lidah sehingga akan memberikan sinyal pada otak dan pada akhirnya akan diterima sebagai sensasi dari rasa umami (Xiong *et al*, 2009).

Salah satu zat yang juga berfungsi sebagai neurotransmitter yaitu glutamat yang secara terus menerus diubah menjadi bentuk *α-ketoglutarate* melalui reaksi deaminasi dengan bantuan enzim *glutamate dehidrogenase* atau melalui proses transaminasi oleh enzim *transaminase*, dan selanjutnya akan dimetabolisme melalui *Tricarboxylic Acid Cycle* menjadi *succinate*, *fumarate* dan *malate*. Glutamat juga merupakan hasil produk dari reaksi deaminasi yang berasal dari *glutamine* dengan bantuan *phosphate activated glutaminase* di mitokondria serta pada *neuron - specific enzyme*.

Pelepasan glutamat secara sinaptik akan mengaktifasi *ligand gated ion channels* (reseptor ionotropik) dan juga *G protein – coupled receptors* (reseptor metabotropik), sedangkan sebagai pengendali aksi dari glutamat akan diterminasi oleh sistem re-uptake yang spesifik terlokasi terutama pada daerah astrosit yang terlatak mengelilingi daerah sinaps. Pada astrosit, glutamat selanjutnya akan diubah menjadi *glutamine* yang berarti, pada perubahannya sebagai *glutamine* tidak memiliki fungsi sebagai neurotransmitter, dapat dilepaskan oleh astrosit menuju neuron. Didalam neuron, *glutamine* akan diubah kembali menjadi glutamat melalui *glutamine-reuptake system*, selanjutnya akan diangkut oleh *vesicular glutamate transporters* menuju *synaptic vesicle* dan terakhir akan siap untuk dilepaskan kembali sebagai neurotransmitter.

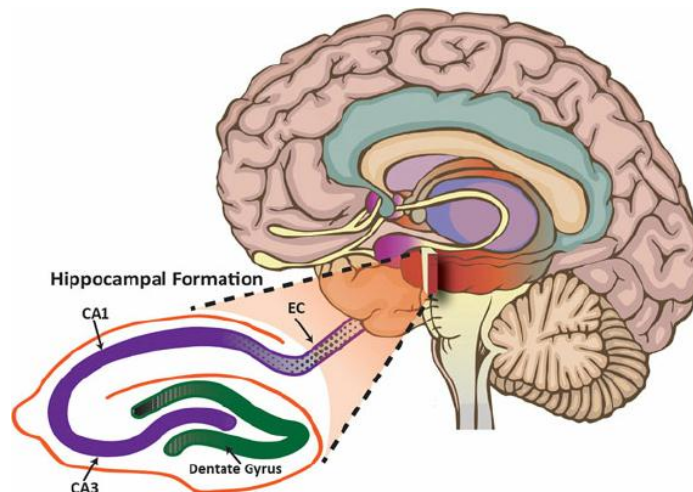
2.2 Memori Spasial

Memori spasial adalah kemampuan untuk belajar, mengingat lokasi spasial, dan mengaitkan mereka dengan rangsangan lain, serta merupakan perilaku adaptif penting yang diperlukan untuk bertahan hidup. Navigasi spasial dan memori spasial terutama terkait dengan *hippocampus*, baik pada tikus dan manusia. Terdapat dua sistem berbeda yang membimbing fungsi spasial, yaitu fungsi pembelajaran dan memori. Pertama, yaitu *takson* sistem, menggunakan isyarat egosentris dan respon perilaku spesifik sebagai penanda rangsangan tertentu untuk memungkinkan navigasi. Misalnya, selalu belok kanan, selalu mendekati stimulus X, selalu menjauh dari stimulus Y, dan sebagainya. Sistem kedua yaitu sistem lokal, mendasari pengarahannya spasial *allocentric* dan pembentukan peta kognitif dari lingkungan (Bannerman *et al.*, 2014).

Hippocampus memainkan peran penting dalam pembelajaran spasial dan kontekstual. *Morris Water Maze* (MWM) adalah tes kemampuan tikus untuk belajar dan menghafal lokasi *platform* tersembunyi di kolam air dengan isyarat menjaga sekitar labirin air. Tugas pembelajaran spasial ini membutuhkan keterlibatan *hippocampal N-methyl-D-aspartat* (NMDA) dan reseptor kolinergik muskarinik (Kesmati *et al.*, 2015).

Daerah yang berperan dalam sistem memori spasial antara lain neostriatum, *cerebellum*, dan korteks sensorimotor (Sherwood, 2014). Hal-hal yang dapat mengakibatkan depresi dan hilangnya neuron di

hippocampus yang selanjutnya dapat menurunkan kemampuan memori dan kognitif seseorang adalah sel-sel di regio CA1 dan CA2 yang rentan terhadap hipoksia, serta CA3 yang rentan terhadap stressor fisik dan kronik (Ardyanto, 2004).



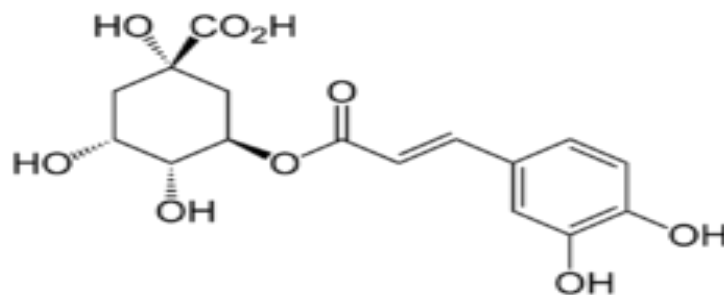
Gambar 1. Anatomi *Hippocampus* (Ardyanto, 2004)

2.3 Kopi Robusta

Klasifikasi tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*) dalam tata nama tumbuhan antara lain divisi *Spermatophyta*, sub divisi *Angiospermae*, kelas *Dicotyledonae*, ordo *Rubiales*, famili *Rubiaceae*, genus *Coffea*, dan spesies *Coffea canephora* (Najiyati, 2009). Penyebaran kopi robusta di Indonesia relatif luas karena dapat tumbuh baik pada daerah yang lebih rendah. Kopi robusta memiliki karakteristik fisik biji agak bulat, lengkungan tebal, dan garis tengah dari atas kebawah hampir rata (Rukmana, 2014). Kopi robusta merupakan salah satu jenis kopi yang banyak dibudidayakan oleh penduduk karena kopi robusta lebih mudah dibudidayakan jika dibandingkan dengan tanaman kopi arabika. Kopi

robusta tumbuh pada ketinggian 400-700 mdpl. Keunggulan kopi robusta adalah lebih resisten terhadap serangan hama dan penyakit (Putrid, 2014).

Kopi robusta memiliki banyak kandungan kimia pada bijinya seperti karbohidrat, senyawa nitrogen (protein, asam amino bebas, kafein, *trigonelline*), lemak (minyak kopi, diterpen), mineral, asam dan ester (asam klorogenat, asam kuinat). Asam klorogenat merupakan ester yang dibentuk dari asam trans-sinamat (misalnya kafeat, ferulat dan p-kumarat) dan asam kuinat yang mempunyai gugus hidroksil pada posisi aksial pada karbon 1 dan 3 dan hidroksil equatorial pada karbon 4 dan 5 (Farah *et al.*, 2008).



Gambar 2. Struktur Kimia Asam Klorogenat (Farah *et al.*, 2008)

Kopi menunjukkan aktivitas antioksidan yang efektif, baik bagi hewan maupun manusia yang terutama disebabkan oleh kandungan polifenolnya (Priftis, 2015). Kopi juga bermanfaat sebagai *neuroprotector*. Shukitt-hale (2013) menunjukkan pada tingkat konsentrasi 0,55% kopi memiliki efek proteksi terhadap saraf yang terlihat dari perubahan kognitif dan psikomotorik yang lebih baik. Lee *et al* (2018) menunjukkan komponen

antioksidan pada kopi yang bersifat *neuroprotector* tercapai pada dosis 5mg/ml. Biji kopi adalah salah satu sumber asam klorogenat pada makanan yang dikonsumsi manusia seperti pada biji kopi yang tidak disangrai (*green coffee bean*) mengandung asam klorogenat sebesar 6-12 %. Menurut status gizi, asam klorogenat merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang kuat (Priftis, 2015). Terdapat studi terkait kandungan asam klorogenat dalam biji kopi yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dapat mencegah perilaku depresi dengan menurunkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Lim *et al.*, 2018).



Gambar 3. Gambaran Fisik Biji Kopi Robusta dan Arabika (Darmayasa, 1991)

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan-bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Harborne, 1987). Ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) diperoleh dengan memblender biji kopi robusta kering hingga menjadi serpihan kecil, selanjutnya ditumbuk sampai halus. Biji kopi yang telah halus dimaserasi dalam larutan etanol 97% sebanyak

selama 24 jam dengan menggunakan shaker bath. Setelah itu disaring dan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kopi pekat (Darmayasa, 1991).

2.4 Tikus Putih

Spesies yang sering dipakai sebagai hewan model pada penelitian adalah *Rattus norvegicus*. Adapun taksonomi tikus ini adalah kingdom *Animalia*, filum *Chordata*, kelas *Mamalia*, ordo *Rodensia*, famili *Muridae*, subfamili *Murinae*, genus *Rattus*, spesies *Norvegicus* (Wolfensohn and Lloyd, 2013).

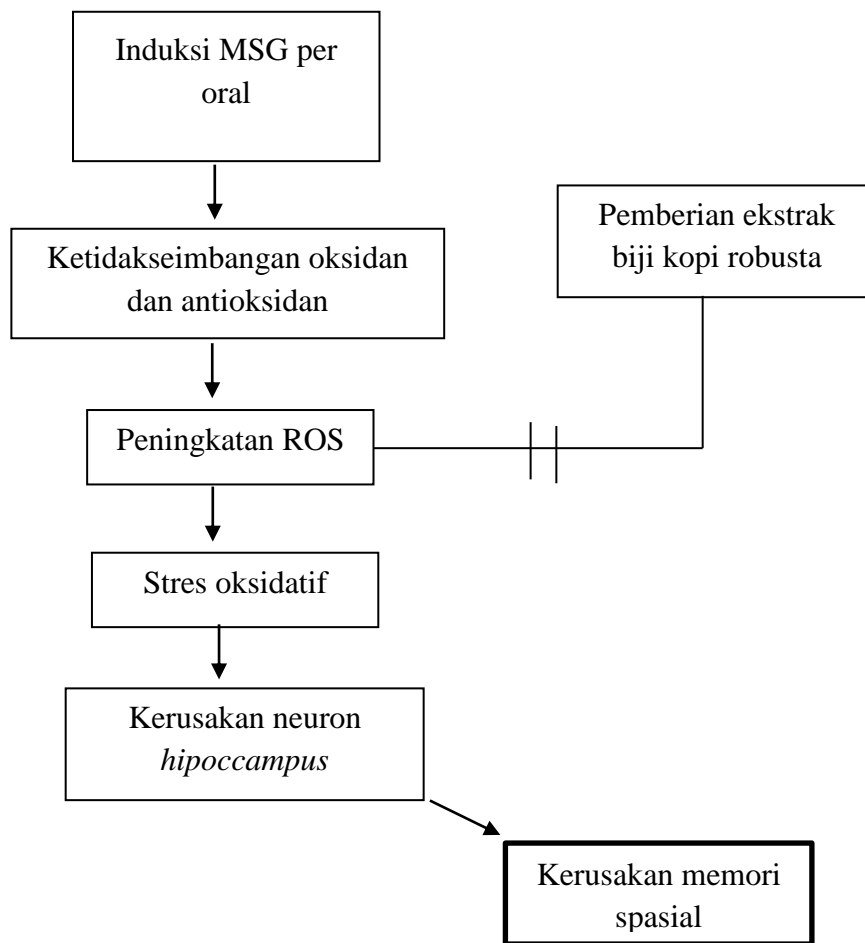


Gambar 4. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* (Alvin and Terry, 2009)

Rattus norvegicus mempunyai 3 galur, yaitu *Sprague dawley*, *Wistar*, dan *Long Evans*. Galur *Sprague dawley* memiliki tubuh yang ramping, kepala kecil, telinga tebal dan pendek dengan rambut halus, serta ukuran ekor lebih panjang daripada badannya. Galur *Wistar* memiliki kepala yang besar dan ekor yang pendek, sedangkan galur *Long Evans* memiliki ukuran tubuh yang lebih kecil serta bulu pada kepala dan bagian tubuh depan berwarna hitam (Malole dan Pramono, 1989).

2.5 Kerangka Teori

Kerusakan saraf terjadi akibat pengaktifan reseptor glutamat yaitu *N-methyl-D-aspartic acid receptor* sehingga menyebabkan influks ion kalsium berlebih ke dalam saraf dan sebagai hasil akhirnya menyebabkan akumulasi berlebih ion kalsium pada saraf. Pada tahap selanjutnya akumulasi ion kalsium yang berlebihan ini menyebabkan aktifnya Ca^{2+} - *dependent process*, sebuah proses yang dalam keadaan normal terjadi dalam level yang rendah, secara berlebihan pula. Pengaktifan Ca^{2+} - *dependent process* secara berlebihan ini akan berdampak pada peningkatan dalam pengeluaran beberapa enzim seperti *protease*, *phosphatase*, *endonuclease*, *phospholipase*, dan *nitric oxide synthesis* yang dalam keadaan normal terdapat dalam kadar yang rendah. Semua keadaan ini menyebabkan terjadinya kerusakan saraf yang dapat berlanjut menjadi kematian saraf itu sendiri. Pemberian ekstrak biji kopi robusta diharapkan dapat membantu memperbaiki kerusakan neuron di *hippocampus* karena kandungan asam klorogenat terbukti mampu mencegah perilaku depresi dengan menurunkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Lim *et al.*, 2018).



Keterangan :

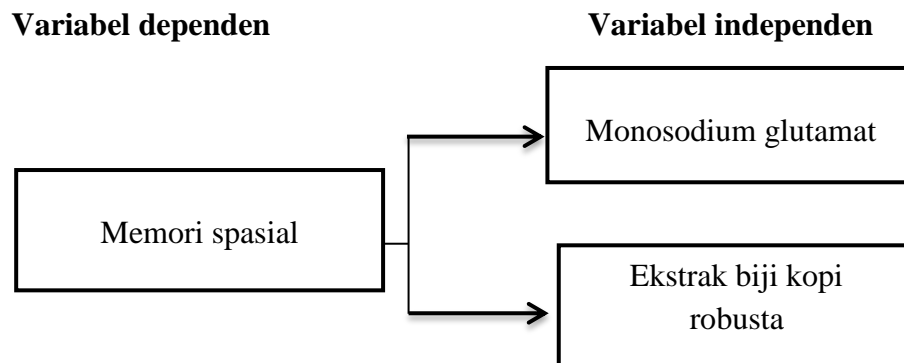
→ : mengakibatkan

—||— : menghambat

□ : yang diteliti

Gambar 5. Kerangka teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka konsep

2.7 Hipotesis

H0 : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori spasial pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi MSG.

H1 : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori spasial pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi MSG.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap dengan pendekatan *Posttest Only Control Group Design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Februari 2019. Perlakuan dan pengukuran memori spasial dilakukan di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan dewasa.

3.3.2 Sampel Penelitian

Penentuan besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Frederer (Frederer, 1977) :

$$t(n-1) \geq 20$$

$$5(n-1) \geq 20$$

$$5n - 5 \geq 20$$

$$5n \geq 20 + 5$$

$$5n \geq 25$$

$$n \geq 5$$

Keterangan :

t : jumlah kelompok

n : jumlah sampel tiap kelompok

Dari hasil perhitungan rumus di atas, sampel yang digunakan pada tiap kelompok sebanyak 5 ekor tikus. Terdapat 5 kelompok, sehingga total sampel yang digunakan adalah sebanyak 25 ekor tikus. Untuk menghindari *drop out* atau tikus mati maka ditambahkan tikus dengan rumusan sebagai berikut :

$$N = \frac{5}{1-f}$$

$$N = \frac{5}{1-10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,55$$

$$N = 6 \text{ (pembulatan ke atas)}$$

Keterangan :

N : besar sampel koreksi

n : besar sampel awal

f : perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

Dari perhitungan rumus tersebut maka jumlah sampel tambahan yang diperlukan adalah 1 ekor pada tiap kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus dan jumlah sampel secara keseluruhan sebanyak 30 ekor tikus. Namun, pada penelitian ini terdapat 5 ekor tikus yang mati sebelum perlakuan sehingga sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor.

3.4 Kelompok Perlakuan

Sampel 25 ekor tikus putih dewasa akan di bagi menjadi 5 kelompok sebagai berikut :

1. Kelompok kontrol negatif (-): kelompok tikus putih yang hanya diberikan akuades peroral sebanyak 2 mL/hari.
2. Kelompok kontrol positif (+): kelompok tikus putih yang diinduksi oleh MSG sebanyak 2 gr/kgBB/hari yang diencerkan dalam 2 mL akuades.
3. Kelompok perlakuan 1 (P1): kelompok tikus putih yang diinduksi oleh MSG 2 gr/kgBB/hari dan diinduksi kopi robusta Lampung sebanyak 0,5 mg/mL/hari.
4. Kelompok perlakuan 2 (P2): kelompok tikus putih yang diinduksi MSG sebanyak 2 gr/kgBB/hari dan diinduksi kopi robusta Lampung sebanyak 1 mg/mL/hari.
5. Kelompok perlakuan 3 (P3): kelompok tikus putih yang diinduksi MSG sebanyak 2 gr/kgBB/hari dan diinduksi kopi robusta Lampung sebanyak 2 mg/mL/hari.

3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Terdapat kriteria inklusi dan eksklusi yang harus dipenuhi dalam pengambilan sampel.

3.5.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sehat, jenis kelamin jantan, berat badan 150-250 gram, usia 2-4 bulan.

3.5.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sakit selama diberikan perlakuan yang ditandai dengan penampakan rambut botak atau rontok, kusam, dan aktivitas tidak aktif
2. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
3. Mati sebelum perlakuan

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

- a. MSG
- b. Ekstrak biji kopi robusta Lampung

3.6.2 Variabel Terikat

- a. Memori spasial

3.7 Definisi Oprasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Variabel terikat: memori spasial	Kemampuan dalam mengenali tempat, ruang, dan konteks keberadaan benda yang dipengaruhi oleh <i>hippocampus</i> , dapat dinilai dengan metode <i>Morris Water Maze</i> (Alvin and Terry, 2009). Memori dihitung dengan mengukur lamanya tikus tinggal di kuadran <i>platform</i> selama 60 detik pengukuran (Penn State, 2013).	Stop-watch	Rerata waktu	Numerik
2.	Variabel bebas : MSG	Larutan MSG diinduksi secara oral dengan dosis 2 gr/kgBB/hari yang diencerkan dalam 2 mL akuades (Ramalhoa dkk., 2018).	Neraca	gr/kgBB/hari	Numerik
3.	Variabel bebas : ekstrak biji kopi robusta Lampung	Ekstrak biji kopi yang berfungsi sebagai neuroprotektor dibuat dengan cara mencampurkan 300 gr bubuk kopi ke dalam 1200 ml etanol 97% lalu didiamkan selama 24 jam. Kemudian diinduksi peroral 30 menit setelah induksi MSG dengan tiga dosis variasi yakni 0,5 mg/mL/hari, 1 mg/mL/hari, dan 2 mg/mL/hari	Neraca	mg/mL/hari	Numerik

3.8 Alat dan Bahan Penelitian

3.8.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus, tempat makan, spuit 1 cc, neraca, kamera, botol minuman 75 mL, *stopwatch*, dan MWM.

3.8.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang memenuhi kriteria inklusi.
2. Monosodium glutamat yang diberikan dalam bentuk larutan yang dibuat dengan cara melarutkan MSG ke dalam akuades agar mudah untuk diinjeksikan. MSG memiliki kelarutan sebesar 20 gr/100 ml dalam air, yang berarti MSG dapat larut dalam akuades. Larutan MSG dibuat dari dosis yang paling besar, yaitu 2 gr/kgBB/hari dan tikus yang digunakan memiliki rerata berat badan 150-250 gram (Juliana *et al.*, 2017).
3. Ekstraksi dilakukan dengan cara melarutkan 300 gram bubuk biji kopi robusta ke dalam 1200 mL etanol 97% dan didiamkan selama 24 jam. Kemudian sebelum diberikan ke tikus pada tiap perlakuan dengan menggunakan alat sonde, dibagi menjadi tiga dosis ekstrak biji kopi robusta yaitu 0,5 mg; 1 mg; 2 mg dan masing-masing diencerkan ke dalam 1 mL etanol (Lee *et al.*, 2018).

3.9 Prosedur

3.9.1 *Ethical Clearance*

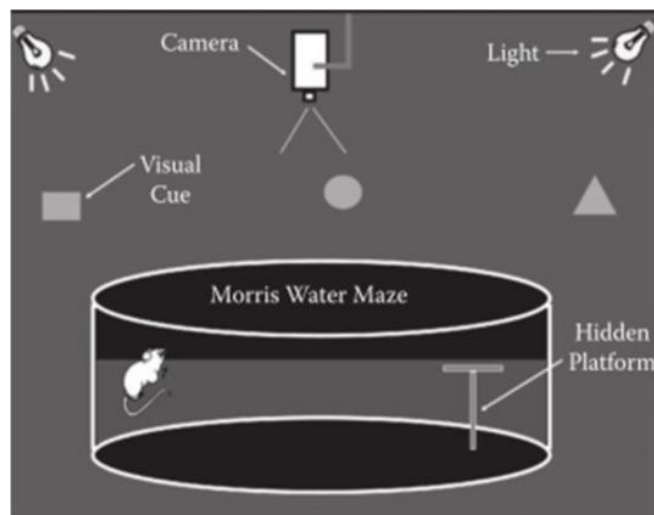
Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 173 /UN26.18/PP.05.02.00/2019 tanggal 22 Januari 2019.

3.9.2 Pengadaan Hewan Coba

Pada penelitian ini digunakan hewan coba yaitu tikus putih jantan galur *Sprague dawley* sebanyak 25 ekor.

3.9.3 Pengadaan Alat *Morris Water Maze*

Morris Water Maze adalah kolam hitam melingkar (140 cm, tinggi 60 cm) diisi dengan air (kedalaman 30cm) pada suhu rata rata 24° C. Kolam renang dibagi menjadi 4 kuadran dengan ukuran sama.



Gambar 7. Ilustrasi *Morris Water Maze Test* (Alvin and Terry, 2009)

3.9.4 Pembagian Kelompok

Pada penelitian ini sampel dipilih secara acak dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

3.9.5 Perlakuan

Setelah masa adaptasi, tikus putih diinduksi dengan MSG dan ekstrak biji kopi robusta Lampung selama 10 hari. Induksi dilakukan dengan pemberian MSG secara peroral dengan dosis 2 gr/kgBB/hari untuk kelompok kontrol (+) dan secara berurutan kelompok P1, P2, dan P3 disertai induksi peroral ekstrak biji kopi robusta Lampung sebanyak 0,5 mg/mL/hari, 1 mg/mL/hari, dan 2 mg/mL/hari. Menurut Alvin and Terry, (2009) uji MWM ini dilakukan untuk membandingkan memori spasial pada tiap kelompok tikus. Setiap tikus diberi latihan terlebih dahulu selama 2 hari sebanyak 4 kali sebelum diuji. Tikus ditempatkan di tengah kolam menghadapi salah satu dari empat posisi di perimeter.

Penempatan semi acak maksimal tiga percobaan berturut-turut bisa dalam arah yang sama. Kemudian tikus dilepaskan ketika berada tepat di atas air, kemudian tikus akan langsung tahu bahwa mereka tidak lagi ditahan, tikus akan berjuang untuk membebaskan diri. Percobaan dilakukan maksimal selama 60 detik (Deacon, 2013).

Pada percobaan awal tikus dibiarkan mencari *platform*, apabila dalam waktu 60 detik gagal mencapai *platform*, maka tikus dituntun ke arah *platform* dan dibiarkan selama 20 detik untuk beristirahat. Setelah itu tikus diletakkan kembali ke ke kandang untuk beristirahat. Pada percobaan ketiga dan keempat, tikus diletakkan lagi di satu titik. Kemudian tikus akan berenang mencari *platform* dan naik ke atas *platform*. Hewan yang telah mempelajari posisi platform akan menghabiskan sebagian besar waktunya di kuadran tempat platform sebelumnya berada. Hewan yang memori spasialnya buruk akan menghabiskan waktu berenang di kuadran lain (Penn State, 2013). Pemberian ekstrak biji kopi robusta Lampung peroral diinduksikan pada tikus yang telah terpapar MSG dalam 3 kelompok perlakuan dengan 3 dosis berbeda untuk menilai fungsi neuroprotektor dari ekstrak biji kopi tersebut.

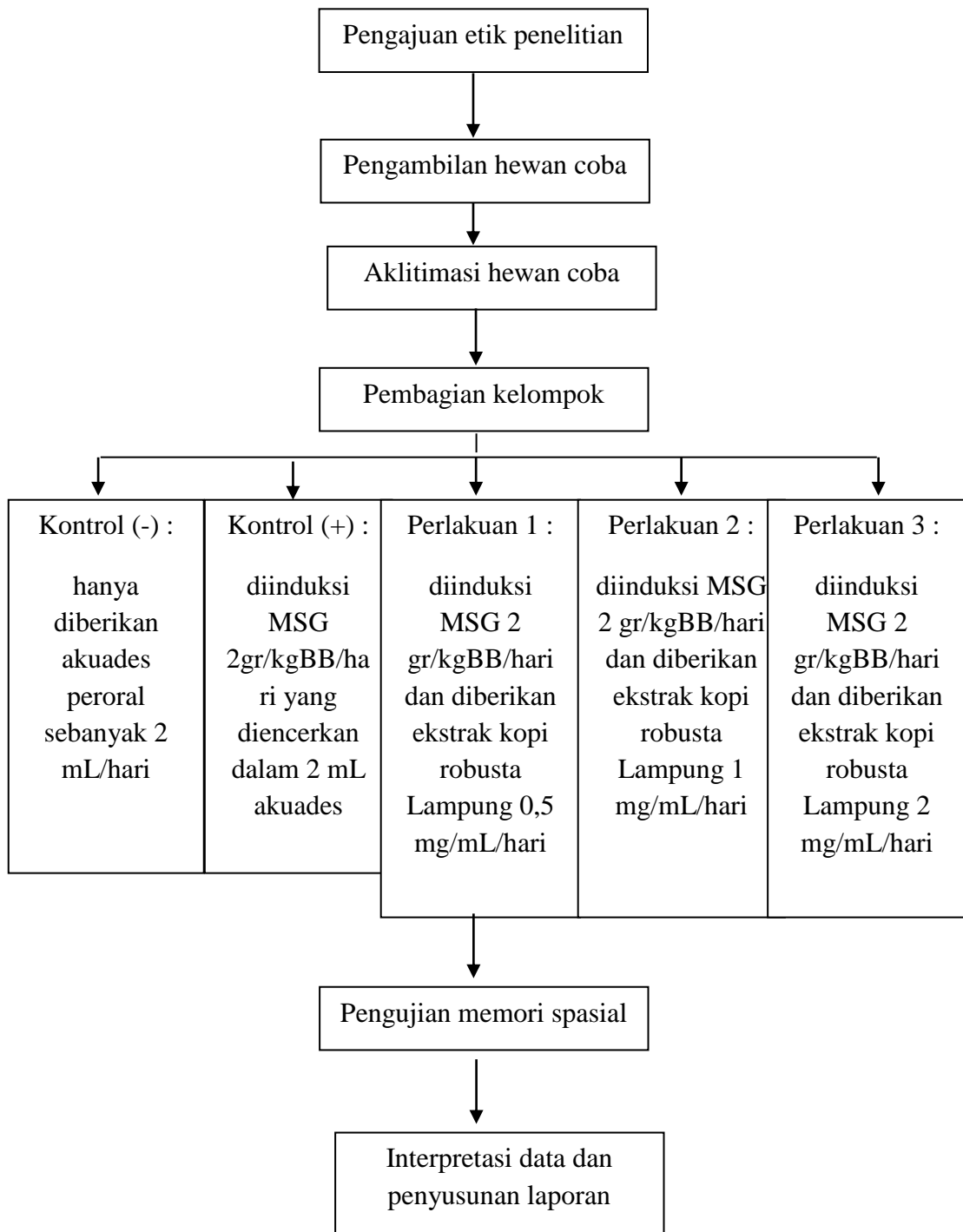
3.10 Pengumpulan Data

Pangumpulan data penelitian dilakukan dengan menghitung hasil rerata memori spasial yang dinyatakan dalam detik masing-masing kelompok penelitian.

3.11 Analisis Data

Analisis data bertujuan untuk mengetahui perbedaan rerata dalam kelompok dengan menggunakan uji statistik *One-way Anova*.

3.12 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur penelitian

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori spasial pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi MSG.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji kopi dalam periode kronik.
2. Pada penelitian selanjutnya, lebih baik menggunakan kopi yang masih hijau dan belum mengalami proses pemanggangan sehingga zat aktif pada kopi tidak terdegradasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvin, V. and Terry, Jr. 2009. Spatial navigation (Water Maze) tasks. In : Buccafusco, JJ (Ed.) : *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton.
- Ardyanto, T D. 2004. *MSG dan Kesehatan : Sejarah, efek dan kontroversinya*. Pathology Department. Tottori University School of Medicine Japan.
- Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, McHugh SB, Rawlins JP, Monyer, et al. 2014. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*. 15(3):181–92.
- Chinese-Restaurant Syndrome. Journal Article. *New England Journal of Med*. 1968. 278(14):796.
- Ciptaningsih, E. 2012. Uji aktivitas antioksidan dan karakteristik fitokimia pada kopi luwak arabika dan pengaruhnya terhadap tekanan darah tikus normal dan tikus hipertensi, Tesis, Departemen Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.
- Darmayasa. 1991. *Budidaya dan pengolahan kopi (Coffea sp)*. Jember: Politeknik Negeri Jember.
- Dong Wook Lim, Taewon Han, Jonghoon Jung, Yuri Song, Min Young Um, Minseok Yoon, Yun Tai Kim. 2018. Chlorogenic acid from Hawthorn Berry (*Crataegus pinnatifida* fruit) Prevents Stress Hormone-Induced Depressive Behavior, through Monoamine Oxidase B-Reactive Oxygen Species Signaling in Hippocampal Astrocytes of Mice. *Mol. Nutrition & Food Research*. Vol. 62.:46-9.
- Deacon, RMJ. 2013. Shallow Water (Paddling) Variants of Water Maze Tests in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, (76):260-68.
- Farah A, Donangelo CM, de Paulis T, Martin PR, Perrone D. 2008. Comprehensive Analysis of Major and Minor Chlorogenic Acids and Lactones in Economically Relevant Brazilian cultivars. *Food Chem*. 106(2): 859- 67.

- Frederer WT. 1977. *Experimental design theory and application*. New Delhi : Oxford and IBH Publishing Co.
- Gamse, T. 2002. *Liquid-Liquid Extraction and Solid-Liquid Extrction*. Institute of Thermal Process and Environmentl Engineering.
- Harborne, JB. 1987. *Metode fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, Terjemahan Kosasih P dan Iwang SJ*. Penerbit ITB Bandung.
- Horvath S, Zhang Y, Langfelder P, Kahn R, Boks M, van Eijk K, van den Berg L,Ophoff RA. 2012. Aging effects on DNA methylation modules in human brain and blood tissue. *Genome Biol.* 97-8.
- Ismail, NH. 2012. Assessment of DNA damage in testes from young wistar male rat treated with MSGe. *Life Science Journal.*1(4):930-39.
- Japardi, Ismail. 2002. *Gangguan Tidur. Laporan Penelitian*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Juliana Bernera Ramalhoa, Aryele Pinto Izaguirryb, Melina Bucco Soaresb,Cristiano Chiapinotto Spiazib, Natasha Frasson Pavinb, Ricardo Ferreira Affeldt. 2017. Selenofuranoside improves long-term memory deficits in rats after exposure to monosodium glutamate: Involvement of Na⁺, K⁺-ATPase activity. Elsevier.
- Katsuyoshi S, Ryuji O, Kazuya K, Hirotaka S, Takashi K, Noriko O, Yoshihisa K. 2019. Effect of Chlorogenic Acids on Cognitive Function: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Nutrients.* 1337-40.
- Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan. 2009-2011. *Data Statistik Perkebunan*.Lampung.
- Kesmati M, Gholami K, Kazeminejad SR. 2015. Effect of postnatal chronic lead exposure on spatial learning and memory in male rat. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences.* 60–62.
- Lee M, McGeer EG, McGeer PL. 2018. Neurobiology of aging quercetin, not caffeine, is a major neuroprotective component in coffee. *Neurobiol. of Aging.* Elsevier Inc, 46: 113-23.
- Leibowitz, B. 2012. *Higher education for the public good: views from the South*. Stoke on Trent: Trentham Books.
- Malole, M.M.B, Pramono, C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium*.Penelaah Maskudi Pertadireja. Departemen Pendidikan

dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor : IPB.

- Maruyama, Y. 2006. Umami Responses in Mouse Taste Cells Indicate More than One Receptor. *Journal of Neuroscience*. 26(8): 2227–2234.
- Mastrangelo ME, Schleich CE, & Zenuto RR. 2008. Short-term effects of an acute exposure to predatory cues on the spatial working and reference memory performance in a subterranean rodent. *Anim Behav*. 77(3): 685-92.
- Najiyati, Sri. 2009. *Kopi, Budidaya dan Penanganan Pascapanen*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Onyema, OO, Farombi EO, Emerole GO, Ukoha AI, and Onyeze. 2006. Effect of vitamin E on MSG induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 4(3).
- Penn State. 2013. Public Research University. Pennsylvania.
- Prastowo, BE, Karmawati., Rubijo, Siswanto, C. Indrawanto., SJ Munarso. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Prawirohardjo W, Dwiprahasto, Kelly. 2000. Administration of Indonesian of MSGe in Indonesia food.
- Priftis, A. 2015. Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. *Mol medicine reports*. 7293–7302.
- Putrid. 2014. *Pembudidayaan tanaman kopi robusta*. Bandung : Penebar Swadaya.
- Rahardjo, Pudji. 2012. *Panduan budidaya dan pengolahan kopi arabika dan robusta*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rukmana, HR. 2014. *Untung Selangit dari Aribisnis Kopi*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Sherwood, L. 2014. *Fisiologi manusia : dari sel ke sistem*. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- Shukitt-hale, B. 2013. Coffee , but not caffeine , has positive effects on cognition and psychomotor behavior in aging. 2183–92.
- Sujono. 1993. *Pembuatan MSG*. Solo : Ladunni.

- Sukohar, A., Setiawan, FF., Wirakusumah, Herry, SS. 2011. Isolasi dan karakterisasi senyawa sitotoksik kafein dan asam klorogenat dari biji kopi robusta Lampung. *Jurnal Medika Planta*. 1 (4)
- Trugo LC. 2003. *Analysis of Coffee Products*. Elsevier Science: Brazil. P1498-1500.
- Wolfensohn, S., and Lloyd, M., 2013, *Handbook of laboratory animal management and welfare*, 4th ed., Wiley-Blackwell, West Sussex, 234.
- Xiong, JS, Branigan D, and Li M. 2009. Deciphering the MSG controversy *International Journal of Clinical and Experimental Med*. 2(4). 329–36.